

بررسی نقش مтанول در کاهش اثرات منفی تنفس کم آبی از طریق سنجش شاخص‌های فتوستزی در گیاه عدس (*Lens culinaris* Medik.)

راهله احمدپور^{*}، سعیدرضا حسین زاده و نظام آرمند

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۴/۲۲)

چکیده:

کمبود آب قابل دسترس، عامل اصلی محدودکننده رشد و تولید محصول در مناطق خشک می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند که محلول پاشی برگ با مтанول در گیاهان ۳ کربنه نقش موثری در تحمل به تنفس کمبود آب در این گیاهان دارد. در این راستا به منظور بررسی اثر مтанول بر ویژگی‌های فتوستزی، فلورسانس کلروفیل و محتواهای کلروفیل گیاه عدس تحت تنفس کم آبی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. عامل محلول پاشی مтанول با ۵ سطح، شاهد (بدون محلول پاشی)، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی بود. محلول پاشی مтанول ۲۵ بار در طول فصل رشد گیاه (گیاهچه‌ای، گلدهی و غلافدهی) و با فواصل ۱۰ روز انجام شد. عامل کم آبی نیز شامل تنفس کم آبی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، تنفس کم آبی ملایم (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) و بدون تنفس (۰ درصد ظرفیت زراعی) اعمال شد. مقایسه میانگین برهمکنش مтанول و تنفس خشکی نشان داد که در شرایط بدون تنفس خشکی، سطوح مтанول در هر ۳ مرحله گیاهچه‌ای، گلدهی و غلافدهی منجر به افزایش معنی‌دار تمامی صفات مورد بررسی به جز تعرق نسبت به سطح شاهد شد. محلول پاشی مтанول در هر ۳ مرحله منجر به کاهش معنی‌دار تعرق در تیمار بدون تنفس خشکی در مقایسه با سطح شاهد شد. در مرحله گیاهچه‌ای در تیمار تنفس خشکی ملایم و شدید، مtanول تأثیر معنی‌داری بر صفات فتوستزی داشت، اما در مراحل گلدهی و غلافدهی کاربرد مtanول در شرایط تنفس ملایم و شدید به جز بخی صفات توانست اثرات منفی ناشی از تنفس کم آبی را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: تنفس کم آبی، محلول پاشی مtanول، شاخص‌های فتوستزی، عدس.

مقدمه:

مناطق خشک و نیمه خشک، عدس جز گیاهانی است که غالباً در اراضی حاشیه‌ای و در خاک‌های نه چندان حاصلخیز کشت می‌شود. در ایران عدس با سطح زیر کشت حدود ۲۶۰ هزار هکتار و با متوسط عملکردی برابر با ۳۶۵ کیلوگرم در هکتار، تولیدی معادل ۹۵ هزار تن در سال دارد (Erskine *et al.*, 2009) که پس از نخود در مقام دوم اهمیت قرار دارد و به دلیل کشت مداوم ارقام کم محصول و حساسیت آنها به تنفس‌های مختلف، دارای عملکرد بسیار پایین می‌باشد (Astaraei and Foruzan ghohar, 2000).

عدس (*Lens culinaris* Medik) از مهمترین حبوبات می‌باشد که در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شود. این گیاه نقش مهمی در بهبود سلامت انسان دارد (Erskine *et al.*, 2009). دانه‌های عدس، به عنوان یک منبع غذایی مهم برای انسان، سرشار از منابع پروتئینی، عناصر مغذی (پتاسیم، فسفر، آهن و روی)، ویتامین‌ها و همچنین اسیدهای آمینه لوسین و تریپتوفان است (Ahmadpour *et al.*, 2015).

سپس اتمسفر می‌شود (Mudgett and clarke, 1993) و بخش دیگر آن تبدیل به فرم آلدهید و سپس به اسید فرمیک و در نهایت به CO_2 تبدیل می‌شود. این CO_2 تولید شده می‌تواند بر ثبیت CO_2 در گیاهان اثر بگذارد (Galbal and Kristine, 2002; Hosseinzadeh et al., 2012) در تحقیقات انجام شده، کاربرد مтанول به عنوان یک منبع کربن برای گیاهان زراعی رواج پیدا کرده است (Downie et al., 2004)، زیرا گیاهان می‌توانند مтанول محلول پاشی شده بر روی برگ‌ها را که کوچکتر از CO_2 می‌باشد، به راحتی جاذب کرده و آن را به عنوان منبع کربنی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند (Gout et al., 2000). گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد محلول پاشی مtanول سبب کاهش نیاز آبی گیاهان در شرایط گرم می‌شود. متابولیسم مtanول منجر به افزایش تولید قند در برگ‌ها می‌شود که این موضوع سبب افزایش فشار آماس و افزایش سرعت ثبیت CO_2 و رشد در گیاهان تیمار شده با آن شده است (Rajala et al., 1998; Vyshkayy et al., 2008) کاربرد برگی مtanول در شرایط تنش کم‌آبی منجر به افزایش برخی خصوصیات فیزیولوژیکی از قبیل رنگدانه‌های فتوستزی، کاهش میزان تعرق، CO_2 درون سلولی و فتوستز خالص در گیاه کتان شد (Makhadm et al., 2002).

سنچش فلورسانس کلروفیل به منظور ارزیابی فعالیت فتوستزی برگ و میزان آسیب وارده به آن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hosseinzadeh et al., 2016). از مهمترین پارامترهای فلورسانس کلروفیل که در تشخیص مدت تنش‌های محیطی کاربرد دارد، کارایی فتوسیستم II می‌باشد. کارایی فتوسیستم II در گیاهان از طریق تعیین نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر (F_v/F_m) اندازه‌گیری می‌شود (Kiani et al., 2008; Rahbarian et al., 2011) مطالعات نشان می‌دهد که تنش خشکی همراه با تابش زیاد منجر به بازدارندگی انتقال الکترون و کاهش کارایی فتوسیستم II می‌شود (Lu et al., 2002). از سنچش کارایی فتوسیستم II برنامه‌های اصلاحی مربوط به بهبود تحمل به سرما در ذرت و برنج (Wilson et al., 1993) و همچنین مقاومت به گرما در

جمله مهمترین دلایل پایین بودن پتانسیل عملکرد عدس در ایران، می‌توان به عملکرد پایین ارقام رایج، اتخاذ روش‌های نامناسب تولید و موقع تنش‌های زیستی و غیرزیستی طی فصل رشد این گیاه اشاره کرد (Mcvicar et al., 2005). مهمترین فاکتور غیر زیستی تهدید کننده عدس، تنش رطوبتی است (Erskine et al., 2009) و در واقع یکی از مهمترین مشکلات تولید محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه‌خشک مشکل کمبود آب و نزولات جوی است (Erskine et al., 2009). از مهمترین اثرات منفی تنش کم‌آبی بر گیاهان می‌توان به بسته شدن روزنه‌ها و متعاقباً کاهش ورود CO_2 ، بازدارندگی در انتقال الکترون، کاهش عملکرد فتوسیستم II و در نهایت فتوستز اشاره کرد (Hosseinzadeh et al., 2016). اولین پاسخ گیاهان به تنش کم‌آبی، بستن روزنه‌ها جهت کاهش تعرق و حفظ آب موجود در گیاه است. از طرف دیگر با بسته شدن روزنه‌ها ورود CO_2 به سلول‌های برگ برای انجام فرآیند فتوسیستز کاهش یافته و در نتیجه آنزیم رویسکو به علت افزایش میزان اکسیژن در مسیر تنفس نوری قرار می‌گیرد (Dawood et al., 2013). تنفس نوری می‌تواند تا ۲۰٪ سبب اتلاف کربن در گیاهان شده و در نهایت منجر به کاهش عملکرد شود (Fall and Benson, 1996).

نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که افزایش غلظت CO_2 درون برگی منجر به کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی در گیاهان می‌شود (Downie et al., 2004; Ramadant and Omran, 2005). یکی از روش‌های افزایش CO_2 درون برگی استفاده از ترکیباتی نظیر مtanول، اتانول، پروپانول و بوتانول می‌باشد که قابلیت تبدیل شدن به CO_2 را دارند (Makhadm et al., 2002; Zbiec et al., 2003). در بین این ترکیبات مtanول ماده کاملاً شناخته شده برای گیاهان می‌باشد، زیرا این ماده یکی از ساده‌ترین فرآورده‌های گیاهی بوده که توسط گیاهان خصوصاً طی رشد برگ‌ها و در اثر دمتیلاسیون پکتین در دیواره‌های سلولی ایجاد می‌شود (Haston and Roj, 2001; Madhaiyan et al., 2006). پس از تولید، مقداری از مtanول از برگ‌ها خارج و وارد لایه مرزی و

محققان انتخاب شد. هر واحد آزمایشی در این مطالعه، یک گلدان به حجم ۲ کیلوگرم بود. برای تهیه خاک هر گلدان، خاک تهیه شده ابتدا از الک دو میلی‌متر عبور داده و به میزان ۱/۵ کیلوگرم در هر گلدان ریخته شد. بذرهای عدس رقم گچساران به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شد و سپس در چهار قسمت از گلدان‌هایی با ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر و قطر ۷ سانتی‌متر کشت شدند و پس از سبز شدن به ۳ عدد گیاهچه در هر گلدان کاهش یافت. گلدان‌ها در اتاقک رشد در شرایط کنترل شده با درجه حرارت روز و شب به ترتیب ۲۵ و ۲۰ درجه سانتی گراد و ۱۲/۵ ساعت روشنایی (شدت نور $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ۲۰۰ و رطوبت ۴۰ درصد) و ۱۱/۵ ساعت تاریکی قرار گرفتند. محلول پاشی متابول با فاصله ۱۰ روز و در طی فصل رویشی گیاه انجام شد. اولین محلول پاشی در مرحله گیاهچه‌ای (۴ هفته پس از کاشت) و محلول پاشی‌های دیگر به ترتیب در اوایل گله‌هی و اوایل غلاف دهی انجام شد. نحوه محلول پاشی به این صورت انجام گرفت که بر روی تمام قسمت‌های بوته عدس قطرات محلول جاری شد. اندازه‌گیری صفات، یک روز بعد از هر بار محلول پاشی و در ساعت ۹-۱۱ صبح انجام گرفت. برای تعیین محتوای کلروفیل کل، از دستگاه کلروفیل Opti-sciences مدل CCM-200 plus ساخت شرکت استفاده شد. اندازه گیری میزان فتوستترز، تعرق و غلظت CO_2 درون برگی با دستگاه اندازه گیری تبادلات گازی در برگ مدل KR8700 ساخت شرکت Korea Tech انجام شد. به منظور سنجش کارایی فتوسیستم II (F_v/F_m)، ابتدا با استفاده از گیره‌های مخصوص دستگاه، سطح برگ مورد نظر به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت، سپس با اتصال رابط دستگاه به برگ نسبت F_v/F_m بوسیله دستگاه hansatech فلوریمتر مدل Poket PEA ساخت شرکت انگلستان خوانده شد. برای رعایت شرایط یکنواخت، از برگ دوم و سوم در هر بوته استفاده شد و از هر تکرار ۶ بار شاخص‌های ذکر شده اندازه گیری شد و میانگین کل به عنوان عدد موردنظر یادداشت شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها

آفتابگردان (Wilson *et al.*, 1993) و تحمل به تنش خشکی در سیب زمینی (Ranalli *et al.*, 1997) استفاده شده است. در مطالعه بر روی گیاه نخود گزارش شد که متابول منجر به افزایش کارایی فتوسیستم II در هر بار محلول پاشی نسبت به سطوح کنترل شد (Hossienzadeh *et al.*, 2014). در برگ گندم، یولاف و مو، محتوای کلروفیل بعد از محلول پاشی با متابول افزایش معنی‌داری یافت (Ramadan and Omran, 2005).

تحقیقات بسیار اندکی در زمینه بر هم کنش محلول پاشی متابول و تنش کمبود آب بر ویژگی‌های فتوستترزی در ایران وجود دارد. از آنجا که عدس یک محصول با ارزش اقتصادی است و در رژیم غذایی مردم ایران نقش بارزی دارد و نظر به این که زمین‌های کشاورزی در ایران غالباً با کمبود آب مواجه هستند، لذا در تحقیق حاضر تلاش شده است تا ضمن بررسی اثر محلول پاشی برگی متابول در کاهش اثرات ناشی از تنش کمبود آب در گیاه عدس، بهترین غلظت محلول پاشی متابول در ارتباط با شاخص‌های فتوستترزی گیاه عدس در شرایط گلخانه تعیین شود.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان انجام شد. تیمارهای مورد بررسی در آزمایش عبارت بودند از محلول پاشی متابول در ۵ سطح شامل کنترل (بدون محلول پاشی)، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درصد حجمی که به هر کدام از سطوح محلول پاشی دو گرم در لیتر گلیسین اضافه شد. به منظور ایجاد شرایط یکسان، محلول پاشی سطح کنترل بوسیله آب مقطر به همراه دو گرم در لیتر گلیسین انجام شد. افزودن گلیسین به محلول آبی متابول سبب جلوگیری از صدمات ناشی از سمیت متابول می شود. تنش کم‌آبی شامل تنش کم‌آبی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، تنش کم‌آبی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) در نظر گرفته شد. سطوح خشکی بر اساس آزمایش‌های مقدماتی و نتایج تحقیقات سایر

عدس معنی دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۱، ۲ و ۳). مقایسه میانگین داده ها در اثرات متقابل نشان داد که در محلول پاشی اول در شرایط بدون تنش کم آبی، سطوح متانول منجر به افزایش معنی دار محتوای کلروفیل کل نسبت به سطح کنترل شد. در شرایط تنش کم آبی ملایم و شدید سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی نسبت به سطوح کنترل افزایش معنی داری در محتوای کلروفیل داشت، اما سطح ۳۵ درصد حجمی در شرایط تنش ملایم و شدید با سطوح کنترل در تیمارهای تنش ملایم و شدید، اختلاف معنی داری نداشتند (جدول ۴). مقایسه میانگین ها در مرحله گلدهی نشان داد که بیشترین محتوای کلروفیل در سطح ۲۵ درصد حجمی در تیمار تنش کم آبی ملایم مشاهده شد که با سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی در شرایط بدون تنش و سطوح ۵ و ۱۰ درصد حجمی متانول در تیمار تنش ملایم تفاوت معنی داری نداشت. در تیمار تنش کم آبی شدید، محتوای کلروفیل در کلیه سطوح متانول کاهش معنی داری نسبت به دیگر سطوح داشت (جدول ۵). در برهم کنش متقابل متانول و تنش کم آبی در مرحله غلاف دهی، نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش کم آبی سطح ۲۵ درصد حجمی متانول منجر به افزایش ۳۳ درصدی محتوای کلروفیل نسبت به سطح کنترل شد که با سطح ۱۵ درصد حجمی نیز اختلاف معنی داری نداشت. در شرایط تنش ملایم و شدید، محلول پاشی با غلظت ۲۵ درصد حجمی منجر به افزایش معنی داری نسبت به سطوح کنترل شد. سطح ۳۵ درصد حجمی نیز نسبت به سطح کنترل در شرایط تنش ملایم و شدید کاهش معنی داری داشت (جدول ۶).

غلظت CO_2 درون سلولی: آنالیز واریانس داده ها در مراحل گیاهچه ای، گلدهی و غلاف دهی نشان داد که اثر محلول پاشی متانول و تنش کم آبی بر غلظت CO_2 درون سلولی معنی دار ($P < 0.01$) بود (جدول ۱، ۲ و ۳). مقایسه میانگین داده ها در اثرات متقابل متانول و تنش در مرحله گیاهچه ای نشان داد که در شرایط بدون تنش کم آبی، افزایش غلظت محلول پاشی متانول از ۵ تا ۲۵ درصد حجمی منجر به افزایش معنی داری در غلظت CO_2 درون سلولی نسبت به سطح کنترل شد. سطح ۳۵

آزمون چند دامنه دانکن ($P \leq 0.05$) بکار رفت.

نتایج:

عملکرد فتوسیستم II (F_v/F_m): نتایج تجزیه واریانس داده ها در هر بار محلول پاشی نشان داد که محلول پاشی متانول، تنش کم آبی و اثر متقابل متانول و تنش کمبود آب تأثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) بر کارایی فتوسیستم II داشت (جدول ۱، ۲ و ۳). نتایج مقایسه میانگین داده ها در برهم کنش متانول و تنش کم آبی در محلول پاشی اول نشان داد که سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی متانول در تمامی تیمارهای تنش کم آبی، منجر به افزایش معنی داری در عملکرد فتوسیستم II نسبت به سطوح کنترل شد. کمترین عملکرد فتوسیستم II در سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در تیمار تنش کم آبی شدید مشاهده شد که می توان به سمیت متانول در غلظت های بالا (Hosseinzadeh *et al.*, 2014) نسبت داد (جدول ۴). در اثرات متقابل متانول و تنش کم آبی در محلول پاشی دوم، نتایج (جدول ۵) نشان داد که در شرایط بدون تنش و تنش کم آبی ملایم، تمامی سطوح متانول به جز سطح ۳۵ درصد حجمی، منجر به افزایش معنی داری شدید این صفت نسبت به کنترل شد اما در شرایط تنش کم آبی شدید این سطوح متانول با سطح کنترل، اختلاف معنی داری نداشت. سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در تیمار تنش کم آبی ملایم و شدید منجر به کاهش معنی داری در میزان کارایی فتوسیستم II نسبت به دیگر سطوح شد. در محلول پاشی سوم، نتایج (جدول ۶) نشان داد که سطح ۲۵ درصد حجمی در تمامی تیمارهای تنش مورد بررسی، بیشترین میزان کارایی فتوسیستم II را نسبت به سطوح کنترل در هر تیمار تنش کم آبی داشت و کمترین میزان این صفت در سطح ۳۵ درصد حجمی متانول در تیمار تنش ملایم مشاهده شد که با سطوح ۳۵ درصد حجمی در شرایط بدون تنش و تنش شدید اختلاف معنی داری نداشت.

محتوای کلروفیل: نتایج تجزیه واریانس مشاهدات طی محلول پاشی در مراحل گیاهچه ای، گلدهی و غلاف دهی نشان داد که اثر متانول و تنش کم آبی بر محتوای کلروفیل بوته های

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص‌های فتوستزی مربوط به مرحله گیاهچه‌ای در گیاه عدس در سطوح مختلف مтанول تحت تنفس کم آبی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد فتوسیستم II	درون سلولی	فتوستز	CO ₂	تعریق
میانگین مربعات						
متanol	۴	۰/۰۰۵ **	۷/۴۳۳ **	۱۱/۷۸۵ **	۳۵۲۰/۶۵۳ **	۸۷/۸۰۲ **
تنفس خشکی	۲	۰/۰۰۳ **	۲۰/۶۹۳ **	۷۴/۳۶۶ **	۷۲۲۰/۶۵۴ **	۲۶۱۰/۹۸۸ **
متanol×تنفس	۸	۰/۰۰۰ ns	۰/۲۳۵ ns	۰/۹۹۴ **	۲۴۹/۹۷۰ **	۹/۱۴۴ ns
خطای آزمایش	۳۰	۰/۰۰۰۱	۰/۲۹۶	۰/۲۷۵	۶۰/۱۳۰	۸/۱۶۸
ضریب تغییرات	-	۱/۳۸	۱۳/۸۲	۷۳۱	۱/۰۵	۸/۹۸

ns، *، ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های فتوستزی مربوط به مرحله گلده‌ی در گیاه عدس در سطوح مختلف مтанول تحت تنفس کم آبی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد فتوسیستم II	درون سلولی	فتوستز	CO ₂	تعریق
میانگین مربعات						
متanol	۴	۰/۰۰۹ **	۷/۱۴۴ **	۲۵/۹۵۲ **	۶۶۳۵/۷۵۰ **	۲۴۳/۱۱۳ **
تنفس خشکی	۲	۰/۰۳۰ **	۴۷/۵۸۰ **	۱۴۷/۴۵۵ **	۱۴۳۵۳/۶۴۹ **	۲۳۵۴/۷۹۸ **
متanol×تنفس	۸	۰/۰۰۱ **	۱/۲۵۹ **	۳/۷۱۳ **	۷۳۲/۳۶۷ ns	۸۴/۹۵۳ **
خطای آزمایش	۳۰	۰/۰۰۰۱	۰/۱۵۲	۰/۸۰۹	۴۲۹/۱۹۷	۲۰/۷۳۶
ضریب تغییرات	-	۱/۷۲	۸/۳۰	۶/۵۱	۲/۷۳	۱۱/۸۳

ns، *، ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۳- تجزیه واریانس شاخص‌های فتوستزی مربوط به مرحله غلاف‌دهی در گیاه عدس در سطوح مختلف مtanول تحت تنفس کم آبی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد فتوسیستم II	درون سلولی	فتوستز	CO ₂	تعریق
میانگین مربعات						
متanol	۴	۰/۰۳۸ **	۱۵/۱۰۴ **	۸۱/۲۹۱ **	۲۹۶۵/۰۳۲ **	۲۶۰/۲۷۳ **
تنفس خشکی	۲	۰/۰۵۳ **	۲۷/۴۷۶ **	۱۱۶/۳۹۴ **	۴۲۰۶۰/۶۰۸ **	۲۹۵۰/۲۸۸ **
متanol×تنفس	۸	۰/۰۰۶ **	۰/۴۸۰ ns	۳/۴۳۹ ns	۲۵۲/۳۵۶ ns	۱۱۱/۰۲۱ **
خطای آزمایش	۳۰	۰/۰۰۰۱	۰/۴۵۷	۲/۹۳۶	۲۹۵/۳۵۶	۱۸/۷۸۲
ضریب تغییرات	-	۱/۹۲	۱۱/۲۷	۱۰/۵۱	۲/۲۳	۷/۹۰

ns، *، ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

سطح مtanول در تیمار تنفس کم آبی شدید مشاهده شد که سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی در یک گروه آماری و سطوح کنترل و ۳۵ درصد حجمی در گروه دیگر قرار گرفتند، به طوری که در این شرایط سطح ۲۵ درصد حجمی بیشترین و سطح ۳۵ درصد حجمی کمترین غلظت CO₂ درون سلولی را داشت (جدول ۴). در مرحله گلده‌ی با

درصد حجمی مtanول در این شرایط نسبت به سطح کنترل کاهش معنی داری داشت. در تیمار تنفس کم آبی، سطح ۵ درصد حجمی مtanول نسبت به سطح کنترل در این صفت افزایش معنی داری داشت اما با سطوح ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی مtanول تفاوت معنی داری نداشت. سطح ۳۵ درصد حجمی نیز منجر به کاهش معنی دار غلظت CO₂ درون سلولی نسبت به دیگر

جدول ۴- مقایسه میانگین شاخص‌های فتوستزی مربوط به مرحله گیاهچه‌ای در گیاه عدس در سطوح مختلف متانول تحت تنش کم‌آبی

تیمارها / متانول	عملکرد فتوسیستم II	محتوای کلروفیل	فتوستز	CO ₂ درون سلولی	تعریق
بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)					
۴۹/۸۰ ^a	۷۴۴/۷ ^{cde}	۷/۸۷۷ ^{cd}	۳/۴۰۰ ^b	۰/۶۹۴ ^{gh}	کنترل
۴۸/۵۷ ^{ab}	۷۷۵/۳ ^{ab}	۱۰/۰۵ ^b	۵/۵۰۰ ^a	۰/۷۲۶ ^{cd}	%۵
۴۴ ^{bc}	۷۷۷/۳ ^a	۱۱/۴۸ ^a	۵/۲۶۷ ^a	۰/۷۳۵ ^{bc}	%۱۵
۴۱/۴۹ ^c	۷۸۹/۷ ^a	۱۲/۱۵ ^a	۵/۸۰۰ ^a	۰/۷۵۴ ^a	%۲۵
۵۰/۴۶ ^a	۷۲۱ ^{fgh}	۹/۵۰۳ ^b	۵ ^a	۰/۶۹۳ ^{gh}	%۳۵
تنش خشکی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)					
۳۲/۹۲ ^d	۷۳۸ ^{def}	۷/۳۸۰ ^{de}	۳/۲۲۱ ^b	۰/۶۹۵ ^{fgh}	کنترل
۲۶/۵۸ ^e	۷۵۸/۵ ^{bc}	۸/۹۰۷ ^{bc}	۵/۱۶۷ ^a	۰/۷۲۴ ^{cd}	%۵
۲۳/۰۵ ^{efg}	۷۵۰/۴ ^{cd}	۹/۸۴۳ ^b	۵/۱۲۵ ^a	۰/۷۲۸ ^{bed}	%۱۵
۲۳/۶۳ ^{efg}	۷۴۵/۳ ^{cde}	۱۰/۱۱ ^b	۵/۳۶۷ ^a	۰/۷۴۵ ^{ab}	%۲۵
۲۶/۲۹ ^e	۷۱۵ ^{gh}	۸/۰۹۳ ^{cd}	۳/۵۰۰ ^b	۰/۶۹۷ ^{fgh}	%۳۵
تنش خشکی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)					
۲۵/۲۱ ^{ef}	۷۰۴/۲ ^{hi}	۴/۷۵۳ ^g	۱/۸۰۰ ^c	۰/۶۸۲ ^h	کنترل
۲۲/۱۵ ^{efg}	۷۲۴/۴ ^{fg}	۶/۰۷۷ ^f	۳/۳۶۷ ^b	۰/۷۰۵ ^{efg}	%۵
۲۰/۷۰ ^{fg}	۷۳۰/۸ ^{efg}	۶۳۱۳ ^{ef}	۳/۰۶۷ ^b	۰/۷۱۲ ^{def}	%۱۵
۱۹/۶۶ ^g	۷۳۳/۲ ^{defg}	۶۳۲۷ ^{ef}	۲/۸۶۷ ^b	۰/۷۱۹ ^{cde}	%۲۵
۲۳/۰۴ ^{efg}	۶۹۶/۱ ⁱ	۵/۸۴۷ ^{fg}	۱/۸۸۳ ^c	۰/۶۶۳ ⁱ	%۳۵

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال %۵ ندارند.

شرایط بدون تنش، غلظت CO₂ درون برگی در بین سطوح محلول پاشی متانول اختلاف معنی‌داری نداشت، اما در شرایط تنش کم‌آبی ملایم و شدید سطح ۳۵ درصد حجمی منجر به کاهش معنی‌داری در این صفت نسبت به دیگر سطوح شد (جدول ۶).

فتوستز (آسیمیلاسیون CO₂): نتایج تجزیه واریانس مشاهدات در هر ۳ مرحله نشان داد که محلول پاشی متانول و تنش کم‌آبی، تأثیر معنی‌داری (P ≤ 0.01) بر فتوستز گیاه عدس داشت (جدول ۱ و ۳). بررسی اثرات متقابل متانول و تنش در محلول پاشی اول در مرحله گیاهچه‌ای نشان داد که در شرایط بدون تنش، تمامی سطوح متانول در یک گروه آماری و سطح کنترل در گروه دیگر قرار گرفت. در بین سطوح محلول پاشی در این شرایط سطح ۲۵ درصد حجمی بیشترین میزان

توجه به نتایج جدول (۵) مشاهده شد که در شرایط بدون تنش سطوح محلول پاشی متانول به جز سطح ۳۵ درصد حجمی، منجر به افزایش معنی‌دار این صفت نسبت به سطح کنترل شد اما با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. در تیمار تنش ملایم، تمامی سطوح متانول با سطح کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت، اما سطح ۳۵ درصد حجمی نسبت به سطوح ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی کاهش معنی‌داری داشت. در تیمار تنش کم‌آبی شدید، سطح ۱۵ درصد حجمی بیشترین میزان CO₂ درون برگی را داشت که با سطوح ۵ و ۲۵ درصد حجمی اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان نیز به سطح ۳۵ درصد حجمی تعلق داشت که به جز سطح ۱۵ درصد حجمی با دیگر سطوح در این تیمار تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵). در مرحله غلاف‌دهی، نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخص‌های فتوستزی مربوط به مرحله گلدهی در گیاه عدس در سطوح مختلف متابول تحت تنفس کم آبی

تیمارها/ متابول	بدون تنفس خشکی (۱۰۰ ظرفیت زراعی)	عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm)	محتوای کلروفیل	فتوستز	CO ₂ درون سلولی (μmol m ⁻² s ⁻¹)	تعریق (mg dm ⁻² hr ⁻¹)
کنترل	۰/۷۶۷ ^d		۴/۷۰ ^{bc}	۱۴/۳۱ ^{bc}		۷۸۲/۵ ^b
٪۵	۰/۸۳۱ ^{ab}		۶ ^a	۱۵/۸۹ ^b		۵۳/۳۹ ^b
٪۱۵	۰/۸۲۴ ^b		۷/۷ ^a	۱۹/۵۰ ^a		۵۰/۱۱ ^{bc}
٪۲۵	۰/۸۵۰ ^a		۷/۴۳ ^a	۱۹/۶۵ ^a		۴۲/۴۱ ^{cd}
٪۳۵	۰/۷۷۴ ^{cd}		۳/۸۰ ^c	۱۳/۷۲ ^{cd}		۵۸/۹۷ ^b
تنفس خشکی ملايم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)						
کنترل	۰/۷۳۳ ^e		۵/۱۰ ^b	۱۱/۲۴ ^{ef}		۷۴۰/۸ ^{cde}
٪۵	۰/۷۷۱ ^{cd}		۷/۳۶ ^a	۱۱/۶۵ ^{def}		۷۵۳/۷ ^{bcd}
٪۱۵	۰/۷۹۲ ^c		۷/۸۰ ^a	۱۵/۹۴ ^b		۷۶۸/۱ ^{bc}
٪۲۵	۰/۷۸۶ ^{cd}		۷/۹۶ ^a	۱۴/۱۸ ^{bc}		۷۶۸/۷ ^{bc}
٪۳۵	۰/۶۷۷ ^f		۳/۹۳ ^c	۱۰/۷۰ ^{ef}		۷۲۰ ^{de}
تنفس خشکی شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)						
کنترل	۰/۷۲۱ ^e		۲/۳۳ ^d	۱۰/۲۳ ^{ef}		۷۲۳/۹ ^{de}
٪۵	۰/۷۳۱ ^e		۲/۶۶ ^d	۱۱/۰۵ ^{ef}		۷۳۷/۱ ^{cde}
٪۱۵	۰/۷۲۴ ^e		۲/۸۰ ^d	۱۱/۹۷ ^{def}		۷۶۵/۸ ^{bc}
٪۲۵	۰/۷۳۰ ^e		۲/۷۳ ^d	۱۲/۱۷ ^{cde}		۷۳۴/۴ ^{cde}
٪۳۵	۰/۶۹۸ ^f		۲/۵۰ ^d	۹/۸۵ ^f		۷۰۶/۱ ^e

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

تفاوت معنی‌داری با سطح کنترل نداشتند (جدول ۵). در برهم کنش متابول و تنفس کم آبی در مرحله غلافدهی نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنفس کم آبی، سطح ۲۵ درصد حجمی متابول بیشترین میزان فتوستز را داشت که به جز سطح ۱۵ درصد حجمی متابول نسبت به سایر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. در شرایط تنفس کمترین میزان فتوستز در سطح ۳۵ درصد حجمی مشاهده شد که با سطح کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. در شرایط تنفس ملايم، تمامی سطوح محلول پاشی با سطح کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت، اما در شرایط تنفس شدید، سطوح ۵ و ۱۵ درصد حجمی نسبت به سطح کنترل منجر به افزایش معنی‌دار فتوستز شد (جدول ۶).

تعزیز: نتایج آنالیز واریانس مشاهدات در محلول پاشی اول، دوم و سوم نشان داد که محلول پاشی متابول و تنفس کم آبی

فتوستز را داشت که به جز سطح ۱۵ درصد با سایر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. در شرایط تنفس کم آبی ملايم و شدید مشاهده شد که سطوح ۵ و ۲۵ درصد حجمی متابول نسبت به سطح کنترل در این شرایط افزایش معنی‌داری داشت، اما نسبت به یکدیگر سطوح محلول پاشی متابول در شرایط تنفس شدید نسبت به تنفس ملايم کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها در محلول پاشی دوم (مرحله گلدهی) نشان داد که سطوح ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی متابول در شرایط بدون تنفس کم آبی و تنفس ملايم میزان فتوستز را نسبت به سطح کنترل در این شرایط به صورت معنی‌داری افزایش داد. سطح ۳۵ درصد حجمی در شرایط بدون تنفس و تنفس ملايم تفاوت معنی‌داری با سطح کنترل نداشت. در شرایط تنفس شدید، سطوح محلول پاشی متابول

جدول ۶- مقایسه میانگین شاخص‌های فتوستزی مربوط به مرحله غلافدهی در گیاه عدس در سطوح مختلف متانول تحت تنش کم‌آبی

تیمارها/ متانول	عملکرد فتوسیستم II (F _v /F _m)	محتوای کلروفیل	فتوستز CO ₂ درون سلولی (μmol m ⁻² s ⁻¹)	تعرق (mg dm ⁻² hr ⁻¹)	بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)
کنترل	۰/۷۸۶ ^e	۷/۱ ^{bed}	۱۰/۹۷ ^{bcd}	۸۲۳ ^a	۸۹/۴۶ ^a
%۵	۰/۸۹۶ ^c	۷/۳ ^b	۱۷/۸۳ ^b	۸۴۲/۳ ^a	۶۸/۵۳ ^b
%۱۵	۰/۹۳۱ ^b	۸/۵ ^a	۱۹/۲۳ ^{ab}	۸۳۶/۲ ^a	۶۵/۱۳ ^{bc}
%۲۵	۰/۹۵۸ ^a	۹/۲۳ ^a	۲۲/۹۷ ^a	۸۴۳ ^a	۵۶/۵۷ ^{cd}
%۳۵	۰/۷۱۴ ^{gh}	۵/۵ ^{cde}	۱۳/۶۸ ^{cde}	۸۱۲/۸ ^a	۷۳/۶۴ ^b
تشخیص ملايم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۷۵۰ ^f	۵/۸۰ ^{cd}	۱۴/۸۱ ^{bcd}	۷۶۰/۱ ^b	۵۰/۵۹ ^{de}
%۵	۰/۸۲۱ ^d	۷/۱۶ ^{bc}	۱۷/۸۵ ^b	۷۶۰/۶ ^b	۵۱/۱۳ ^{de}
%۱۵	۰/۸۷۶ ^c	۷/۸۳ ^{bc}	۱۷/۷۷ ^b	۷۵۲/۳ ^{bc}	۴۹/۰۲ ^{de}
%۲۵	۰/۸۴۱ ^d	۷/۲۳ ^b	۱۷/۳۰ ^b	۷۶۳/۱ ^b	۴۷/۴۰ ^{de}
%۳۵	۰/۷۰۲ ^h	۴/۰۳ ^f	۱۲/۳۲ ^{def}	۷۰۳/۹ ^d	۵۱/۴۷ ^{de}
تشخیص شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)					
کنترل	۰/۷۳۴ ^{fg}	۴/۴ ^{ef}	۱۱/۶۲ ^{ef}	۷۴۱/۹ ^{bc}	۴۷/۸۱ ^{de}
%۵	۰/۷۳۵ ^{fg}	۴/۸ ^{def}	۱۴/۹۷ ^{bed}	۷۴۲/۷ ^{bc}	۴۲/۲۵ ^e
%۱۵	۰/۷۴۲ ^f	۵/۵ ^{cde}	۱۵/۴۱ ^{bed}	۷۴۱/۹ ^{bc}	۴۱/۷۱ ^e
%۲۵	۰/۷۷۵ ^e	۵/۶ ^{cde}	۱۶/۰۸ ^{bc}	۷۵۱/۴ ^{bc}	۴۱/۴۶ ^e
%۳۵	۰/۷۰۴ ^h	۲/۷ ^g	۱۰/۲۸ ^f	۷۰۳/۳ ^d	۴۶/۵۰ ^{de}

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

سطح محلول پاشی متانول منجر به کاهش معنی‌داری در میزان تعرق در مقایسه با سطح کنترل شد، به طوری که در این شرایط بیشترین و کمترین تعرق به ترتیب به سطوح کنترل و ۲۵ درصد حجمی متانول اختصاص داشت. در شرایط تنش ملايم و شدید، تفاوت معنی‌داری بین سطوح محلول پاشی و سطح کنترل وجود نداشت (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین مشاهدات در محلول پاشی سوم نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی، سطح کنترل بیشترین میزان تعرق را داشت که با دیگر سطوح اختلاف معنی‌داری داشت و کمترین میزان این صفت نیز در شرایط بدون تنش، در سطح ۲۵ درصد حجمی متانول بود که با سطح ۱۵ درصد حجمی تفاوت معنی‌داری نداشت. در شرایط تنش ملايم و شدید، کلیه سطوح متانول با

تأثیر بسیار معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر میزان تعرق در گیاه عدس داشت (جدول ۱، ۲ و ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در اثرات متقابل متانول و تنش در محلول پاشی اول نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی، سطوح ۱۵ و ۲۵ درصد حجمی کاهش معنی‌داری نسبت به سطح کنترل داشت. سطوح ۵ و ۳۵ درصد حجمی متانول در این شرایط تفاوت معنی‌داری با سطح کنترل نداشت. در شرایط تنش ملايم، تمامی سطوح محلول پاشی متانول منجر به کاهش تعرق در مقایسه با سطح کنترل شد، اما در شرایط تنش شدید، کمترین مشاهده شد که با سطح ۲۵ درصد حجمی مشاهده شد که با سطح کنترل اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۴). در محلول پاشی دوم، مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در شرایط بدون تنش کمبود آب،

افزایش فرآیند کربوکسیلاسیون در مقایسه با فرآیند اکسیژناسیون آنزمی روبیسکو می شود (Hosseinzadeh *et al.*, 2014).

محتوای کلروفیل: در مطالعه بر روی اثرات تنفس کم آبی بر ژنتوپهای نخود گزارش کردند که با کاهش میزان آب قابل دسترس، محتوای کلروفیل کل در بافت سبز برگ کاهش می یابد (Rahbarian *et al.*, 2011). ثبات کلروفیل به عنوان شاخصی از تنفس کم آبی مطرح است و شاخص پایداری بالا به معنی بی تأثیر بودن اثرات تنفس بر گیاه می باشد و موجب دسترسی بهتر گیاه به کلروفیل می شود (Guerfel *et al.*, 2008). مطالعات متعددی نشان داده گیاهانی که در شرایط تنفس خشکی قرار می گیرند، جذب منیزیم و آهن از خاک در آنها کاهش می یابد که نتیجه آن کاهش میزان سنتز کلروفیل می باشد (Keles and Onsel, 2004). از طرف دیگر، از مهمترین اثرات منفی ناشی از تنفس کم آبی در گیاهان افزایش رادیکال های آزاد بوده که سبب پراکسیداسیون و درنتیجه تجزیه کلروفیل می شوند (Flexas and Medrano, 2008). در این مطالعه نیز مشاهده شد که تنفس کم آبی شدید منجر به کاهش معنی داری در مراحل گیاهچه ای، گلدهی و غلافدهی شد اما کلروفیل در شرایط تنفس ملایم در مقایسه با شرایط بدون تنفس کم آبی کاهش معنی داری نداشت. در آزمایشی بر روی نخود مشاهده شد که مтанول از طریق تأثیر بر خصوصیات ریشه از قبیل طول ریشه اصلی، سطح ریشه و وزن خشک ریشه در جذب برخی عناصر ریزمغذی مانند آهن موثر است (Hosseinzadeh *et al.*, 2012). آهن به عنوان گروه پروستیک هموپروتئین هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح است (Keles and Onsel, 2004) که نقش اصلی در نابودی گونه های واکنش گر اکسیژن (ROS) و پایداری کلروفیل در گیاهان دارند. در این ارتباط Hosseinzadeh و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که محلول پاشی مтанول در سطح ۲۰ درصد حجمی بیشترین فعالیت آنزمی کاتالاز و پراکسیداز را نسبت به دیگر سطوح مtanول داشت. کاربرد مtanول به صورت محلول پاشی بر روی برگ های گیاهان سبب افزایش پتانسیل تورگر شده و علت آن دو برابر

یکدیگر اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۶).

بحث:

عملکرد فتوسیستم II (F_v/F_m): مطالعات مختلف گزارش کردند که تحت تنفس های محیطی نظیر خشکی و گرماء، کاهش نسبت F_v/F_m شاخص بسیار مناسبی جهت ارزیابی بازدارندگی نوری در گیاهان است (Paknejad *et al.*, 2007; Hosseinzadeh *et al.*, 2016). شاخص F_v/F_m نشان دهنده ظرفیت انتقال الکترون فتوسیستم II است که با عملکرد کوانتم فتوسترن خالص همبستگی بالای دارد (Zlatev and Yordanov, 2004). تحت شرایط تنفس کم آبی به علت کاهش انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I و افزایش شدید انرژی برانگیختگی در گیرنده های کلروفیل، عملکرد و کارایی فتوسیستم II کاهش می یابد (Lu *et al.*, 2002). از طرف دیگر مشاهده شد که پروتئین D₁ موجود در مرکز واکنش فتوسیستم II و کمپلکس آزادکننده اکسیژن تحت تأثیر تنفس کم آبی شدید تخریب می شوند (Zlatev and Yordanov, 2004). در حالت کلی کاهش نسبت F_v/F_m منجر به کاهش میزان حفاظت نوری شده و دلیلی است بر اینکه تنفس کم آبی بر کارایی فتوسترن اثر معنی داری گذاشته است (Ali-Dib *et al.*, 1994). Rahbarian و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که با افزایش سطوح خشکی نسبت F_v/F_m کمترین میزان را نسبت به شرایط بدون تنفس داشت که این محققین علت را تخریب مراکز واکنش فتوسیستم II تحت تأثیر تنفس خشکی بیان کردند. در این مطالعه مشاهده شد که تنفس کم آبی منجر به کاهش معنی داری در عملکرد فتوسیستم II نسبت به شرایط بدون تنفس شد. در مطالعه بر روی نخود تحت شرایط تنفس خشکی مشاهده شد که سطوح محلول پاشی مtanول منجر به افزایش معنی داری در نسبت F_v/F_m در مقایسه با سطح بدون کاربرد مtanول شد (Hosseinzadeh *et al.*, 2014). مهمترین تأثیر محلول پاشی مtanول بر حفاظت از دستگاه فتوسترنی در شرایط تنفس خشکی، کاهش میزان گونه های واکنش گر اکسیژن در شرایط تنفس خشکی است، به طوری که با افزایش میزان CO₂ درون برگی منجر به

اکسیژناسیون کمتر در گیاه می‌شود (Hemming *et al.*, 1995). مطالعات نشان داده‌اند که ممانعت از آزادسازی O_2 که وابسته به CO_2 است و ممانعت از تثبیت CO_2 در شرایط تنفس کم‌آبی با افزایش غلظت CO_2 محیط بهبود می‌یابد که این امر نشان دهنده نقش کلیدی روزنه‌ها در کاهش غلظت CO_2 در شرایط تنفس کم‌آبی است (Tilahun and Sven, 2003).

فتوستز (آسیمیلاسیون CO_2): تحقیقات متعدد نشان داده است که گیاهان تحت تأثیر تنفس کم‌آبی ملایم با بستن روزنه‌ها و افزایش اسمولیت‌های سازگار از جمله پروولین و گلایسین بتائین، علاوه بر حفظ آب موجود، جذب آب از خاک را نیز افزایش می‌دهد (Hale *et al.*, 2005)، اما در تنفس کم‌آبی شدید علاوه بر موارد ذکر شده، به دلیل انجام واکنش‌های تخربی و بیوشمیابی، فتوستز به شدت کاهش می‌یابد (Johnson *et al.*, 2002). کاهش میزان آسیمیلاسیون CO_2 در پژوهش‌های مختلف به عنوان مهمترین اثر منفی ناشی از تنفس کم‌آبی بیان شده است (Flexas and Medrano, 2008; Jaleel *et al.*, 2008) مطالعه نیز کاهش میزان تثبیت CO_2 در هر ۳ مرحله گیاهچه‌ای، گلدهی و غلافدهی در شرایط تنفس کم‌آبی شدید و ملایم نسبت CO_2 به شرایط بدون تنفس مشاهده شد. مтанول در مقایسه با مولکول نسبتاً کوچکتری است که به راحتی توسط گیاهان، جذب شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (Downie *et al.*, 2004). گیاهان می‌توانند مtanول محلول پاشی شده بر روی برگ‌ها را به راحتی جذب کرده و آن را به عنوان منع کرینی اضافه بر کربن اتمسفر مورد استفاده قرار دهند (Gout *et al.*, 2000). مtanول اکسیداز اولین آنزیم دخیل در روند تبدیل مtanول (CH_3OH) به CO_2 است که مtanول تحت تأثیر این آنزیم تبدیل به فرمات (فرمیک اسید) می‌شود. در مرحله بعد فرمات توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به CO_2 شده و منجر به افزایش CO_2 درون برگی با وجود بسته بودن روزنه‌ها می‌شود (Zbiec *et al.*, 2003; Dawood *et al.*, 2013). افزایش فتوستز در اثر کاربرد برگی مtanول در غلظت ۲۰ درصد حجمی در پنهان (Makhsum *et al.*, 2002) و در غلظت ۳۰ درصد حجمی در نخود (Hossinzadeh *et al.*, 2014) گزارش شد.

شدن میزان قند تولید شده در برگ‌ها می‌باشد که منجر به افزایش میزان آب قابل دسترس برای گیاه می‌شود (Zbiec *et al.*, 2003; Nadali *et al.*, 2010). در مطالعاتی که بر روی گوجه فرنگی و فلفل انجام شد، محلول پاشی مtanول به همراه گلیسین مقدار کلروفیل برگ‌ها را افزایش داد (Row *et al.*, 1994). مطالعات Rajala و همکاران (1998) نیز افزایش مقدار کلروفیل در گندم و یولاف را بعد از محلول‌پاشی مtanول نشان داد. در مطالعه حاضر در مراحل گیاهچه‌ای، گلدهی و غلافدهی مشاهده شد که در شرایط بدون تنفس کم‌آبی و تنفس ملایم مtanول در افزایش و ثبات کلروفیل نقش داشت.

غلظت CO_2 درون برگی: در بررسی بر روی برخی حبوبات مانند نخود و لوبيا مشاهده شد که در شرایط تنفس کمبود آب غلظت CO_2 درون برگی کاهش می‌یابد که علت اصلی آن را بسته شدن روزنه‌ها به منظور کاهش هدر رفت آب گزارش کردند (Zlatev and Yordanov, 2004; Rahbarian *et al.*, 2011) یکی از دلایل اصلی کاهش فتوستز در شرایط تنفس کم‌آبی، کاهش غلظت CO_2 درون برگی بوده که گهرمایه اولیه برای آنزیم رویسیکو است (Hosseinzadeh *et al.*, 2014). مطالعات در زمینه محلول پاشی مtanول بر گیاهان ۳ کربنی نشان داده است، مtanول ترکیبی است که به راحتی توسط گیاهان جذب شده و تحت تأثیر آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به CO_2 می‌شود (Gout *et al.*, 2000; Downie *et al.*, 2004). افزایش غلظت CO_2 تحت تأثیر محلول پاشی مtanول در گوجه فرنگی (Nadeali *et al.*, 1994) چغendarقند (Row *et al.*, 2010)، نیز گزارش شده است. یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد آنزیم رویسیکو که آن را از سایر آنزیم‌های موجود در طبیعت متمایز نموده این است که رویسیکو علاوه بر اینکه قابلیت کاتالیز کربوکسیلاسیون را دارد، در صورت فراهم بودن شرایط قادر است فرآیند اکسیژناسیون را نیز کاتالیز کند (Makhsum *et al.*, 2002). مtanول با متابولیزه شدن سریع به دی اکسید کربن (Gout *et al.*, 2000) و با افزایش CO_2 منجر به روند کربوکسیلاسیون بیشتر و

(Makhsum *et al.*, 2002; Dawood *et al.*, 2013)

نتیجه گیری کلی:

در این تحقیق مشاهده شد که در هر سه مرحله محلول پاشی در شرایط بدون تنش کم‌آبی با افزایش متابولو از ۵ به ۲۵ درصد حجمی نرخ تعرق کاهش یافت. به نظر می‌رسد کاهش تعرق در اثر کاربرد متابولو در شرایط بدون تنش کم‌آبی با افزایش CO_2 درون برگی و حفظ بیشتر آب درون برگی ارتباط مستقیم دارد به طوری که گیاه برای تأمین CO_2 لازم نیازی به بازکردن روزنها نداشته و آن را در دسترس دارد. در تحقیق حاضر در شرایط تنش ملايم و شدید، سطوح متابولو با سطح کنترل از نظر نرخ تعرق تفاوت معنی‌داری نداشت.

سپاسگزاری:

بجا و شایسته است از دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء به منظور پشتیبانی‌های مالی در اجرای این پژوهه تشکر و قدردانی نماییم. همچنین از جناب آقای مهدی رژه برای مساعدت‌های بی‌دریغشان در انجام این پژوهه کمال تشکر را داریم.

تعرق: مهمترین پاسخ عمومی گیاهان به تنش‌های کم‌آبی ملايم و شدید، بسته روزنها است، در نتیجه میزان CO_2 درون سلولی کاهش می‌یابد که خود منجر به کاهش میزان فشار آماس در برگ می‌شود (Hosseinzadeh *et al.*, 2016). کاهش نرخ تعرق در تنش‌های کمبود آب به دلیل بسته شدن روزنها به عنوان سازشی جهت حفظ آب برگ و جلوگیری از هدر-رفتن آن طی تعرق می‌باشد (Flexas and Medrano, 2008). نتایج این مطالعه نشان داد که تنش کم‌آبی شدید در مراحل گیاهچه‌ای، گلدهی و غلافدهی منجر به کاهش معنی‌دار نرخ تعرق در مقایسه با سطح بدون تنش شد. مطالعات مختلف نشان داد که گیاهانی که از مکانیسم‌های کارآمد تری برای کاهش تعرق برخوردار هستند، قادر به تحمل بهتر شرایط تنش خشکی خواهند بود و با حفظ بیشتر آب درون برگی، امکان رشد و انجام فرآیندهای سلولی را بهتر فراهم می‌نمایند (Pagter *et al.*, 2005; Bender Ozenc, 2008).

در بررسی بر روی کتان و سویا گزارش دادند که متابولو پس از محلول پاشی با افزایش میزان CO_2 درون سلولی سبب افزایش میزان آماس و قندسازی در برگ‌ها می‌شود.

منابع:

- Ali-Dib, T., Monneveux, P. H., Acevedo, J. and Nachil, M. M. (1994) Evaluation of praline analysis and chlorophyll fluorescence quenching measurements as drought tolerance indicators in durum wheat (*Triticum turgidum* L. Var. durum). *Euphytica* 79: 65-73.
- Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S. R., Armand, N. and Fani, E. 2015. Effect of methanol on germination characteristics of lentil (*Lens culinaris* Medik.) under drought stress. *Iranian Journal of Seed Research* 2: 83-96.
- Bender Ozenc, D. (2008) Growth and transpiration of tomato seedlings grown in Hazelnut Husk compost under water-deficit stress. *Compost Science & Utilization* 16: 125-13.
- Dawood, M. G., El-Lethy, S. R. and Sadak, M. SH. (2013) Role of methanol and yeast in improving growth, yield, nutritive value and antioxidants of soybean. *World Applied Sciences Journal* 26: 06-14.
- Downie, A., Miyazaki, S., Bohnert, H., John, P., Coleman, J., Parry, M. and Haslam, R. (2004) Expression profiling of the response of *Arabidopsis thaliana* to methanol stimulation. *Phytochem* 65: 2305-2316.
- Erskine, W., Muehlbauer, F. J., Sarker, A. and Sharma, B. (2009) The Lentil, Botany, Production and Uses.
- Fall, R. and Benson, A. A. (1996) Leaf methanol, the simplest natural product from plants. *Trends in Plant Science*. 1: 296-301.
- Flexas, J. and Medrano H. (2008) Drought-inhibition of photosynthesis in C₃-plants: Stomatal and nonstomatal limitation revisited. *Annals of Botany* 183: 183-189.
- Galball, E. and Kristine, W. (2002) The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol. *Journal of Atmospheric Chemistry* 43:195-229.
- Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F., Nonomura, A. R., Benson, A. and Douce, R. (2000) Metabolism of methanol in plant cells. *Plant Physiology* 123: 287-296.
- Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Cha, W. and Zarrouk, M. (2008) Impacts of water stress on gas exchange, water elations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 1: 1-7.

- Hale, B., Herms, D., Hansen, R., Clausen, Th. and Arnold, D. (2005) Effect of drought stress and nutrient availability on dry matter allocation, phenolic glycosides and rapid induced resistance of poplar to two Lymantriid defoliators. *Chemical Ecology* 31: 2601-2620.
- Haston, A. D. and Roje, S. (2001) One carbon metabolism in higher plants. *Annual Review Plant Physiology* 52: 119-138.
- Hemming, D. J. B., Criddle, R. C. and Hansen, L. D. (1995) Effects of methanol on plant respiration. *Journal of Plant Physiology* 146:193-198.
- Hosseinzadeh, S. R., Salimi A. and Ganjeali A. (2011). Effects of foliar application of methanol on morphological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Enviromntal stresses in crop science* 4: 139-150.
- Hosseinzadeh, S. R., Salimi, A., Ganjeali, A. and Ahmadpour, R. (2012) Effects of foliar application of methanol on growth and root characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *European Journal of Experimental Biology* 2:1697-1702.
- Hosseinzadeh, S. R., Amiri, H. and Ismaili, A. 2016. Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Photosynthetica* 54: 87-92.
- Hosseinzadeh, S. R., Cheniany, M. and Salimi, A. (2014) Effects of foliar application of methanol on physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Iranian Journal of Pulses Research* 5: 71-82.
- Jaleel, C. A., Gopi R. and Panneerselvam, R. (2008) Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of Catharanthus roseus to triadimefon treatment. *Comptes Rendus Biologies* 331: 272-277.
- Johnson, J. D., Tognetti, T. and Paris, P. (2002) Water relations and gas exchange in poplar and willow under water stress and elevated atmospheric CO₂. *Physiologia Plantarum* 115: 93-100.
- Keles, Y. and Oncel I. (2004) Growth and solute composition on two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. *Russian Journal of Plant Physiology* 51: 203-208.
- Kiani, S. P., Maury, P., Sarrafi, A. and Grieu, P. (2008) QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Science* 175: 565–573.
- Lu, Q., Lu, C., Zhang, J. and Kuang, T. (2002) Photosynthesis and chlorophyll fluorescence during flag leaf senescence of field-grown wheat plants. *Journal of Plant Physiology*. 159: 1173-1178.
- Madhaiyan, T., Poonguzhali, S., Sundaram, S. P. and Tongmin S. A. (2006) A new insight into foliar applied methanol influencing phylloplane mthylotrophic dynamics and growth promotion of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Environmental and Experimental Botany* 57: 168-176.
- Makhdom, I. M., Nawaz, A., Shabab, M., Ahmad, F. and Illahi, F. (2002) Physiological response of Cotton to methanol foliar application. *Pakistan Journal of Research Science*. 13: 37-43.
- Mudgett, M. E. and Clarke S. (1993) Characterization of plant L-isoasparyl methyltransferases that may be involved in seed survival. Purification, characterization and sequence analysis of the wheat germ enzyme. *Biochemistry* 32:1100-1111.
- Nadali, I., Paknejad, F., Moradi, F. and Vazan, S. (2010) Effect of methanol on yield and some quality characteristics of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cv. Rasoul in drought and non-drought stress conditions. *Journal of Seed and Plant Improvement* 26: 95-108.
- Pagter, M., Bragato, C. and Brix, H. (2005) Tolerance and physiological responses of *Phragmites australis* to water deficit. *Aquatic Botany* 81: 285-299.
- Paknejad, F., Majidi Heravan, E., Noormohammadi, Q., Siadat, A. and Vazan, S. (2007) Effects of drought stress of on chlorophyll fluorescence parameters chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *American Journal of Biochemistry and Biotecnology* 5: 162-169.
- Rahbarian, R., Khavari-nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri A. R. and Najafi, F. (2011) Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia* 53: 47-56.
- Rajala, A., Karkkainen, J., Peltonen J. and Peltonen-Sainio P. (1998) Foliar applications of alcohols failed to enhance growth and yield of C₃ crops. *Industrial Crop Production* 7: 129-137.
- Ramadant, T. and Omran, Y. (2005) The effects of foliar application of methanol on productivity and fruit quality of grapevine cv. flame seedlees. *Vitis Journal* 44: 11-16.
- Ranalli, P., Candilo, D. M. and Bagatta, M. (1997) Drought tolerance screening for potato improvement. *Plant Breeding* 116: 290-292.
- Rowe, R.N., Farr, D.J. and Richards B.A.J. (1994) Effects of foliar and root applications of methanol or ethanol on the growth of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 22: 335-337.
- Tilahun, A. and Sven, S. (2003) Mechanisms of drought resistance in grain: PSII Stomatal regulation and root growth. *Ethiopian Journal of Science* 26: 137-144.
- Turk, M. A., Tahawa, A. R. M. and Lee K. D. (2004) Seed germination and seedling growth of three lentil cultivars under moisture. *Asian Journal of Plant Sciences* 3:395-397.

- Vyshkayy, M., Noormohammadi, Gh., Majidi, A. and Rabii, B. (2008) Effect of methanol on the growth function peanuts. Special Issue Journal of Agricultural Sciences 1: 102-87.
- Wilson, J. M. and Greaves, J. A. (1993) Development of water stress in crop plants. Adaptation of food crops to temperature and water stress. Vegetable Research and Development Center 44: 389-398.
- Zbiec, I., Karczmarczyk, S. and Podsiadlo C. (2003) Response of some cultivated plants to methanol as Compared to supplemental irrigation. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities 6:1-7.
- Zlatev, Z. S. and Yordanov I. T. (2004) Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. Bulgharestan Journal of Plant Physiology 30: 3-18.

Evaluation of Methanol role in reducing the negative effects of water deficit stress in lentil (*Lens culinaris* Medik.)

Raheleh Ahmadpour*, Saeed Reza Hosseinzadeh and Nezam Armand

Department of Biology, Faculty of Sciences, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology,
Behbahan, Iran

(Received: 23 February 2015, Accepted: 13 July 2015)

Abstract:

Water deficiency is an important limiting factor for plant growth in arid environments. Foliar application of methanol in C₃ plants is believed to be more effective in water stress tolerance. In order to evaluate the effects of foliar application of methanol on photosynthetic features, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of lentil under water deficit stress, a factorial experiment in completely randomized design was conducted with three replications. Methanol foliar application factor had 5 levels including control (without foliar application), 5, 15, 25 and 35 volumetric percentages (v/v). Foliar application was applied 3 times during the growing season (seedling, flowering and podding) at 10-days intervals. Water deficit factors were included severe water stress (25% of field capacity), moderate water stress (75% of field capacity) and non-water stress (100% field capacity). The results of methanol and water stress interaction showed that in non-water stress condition, methanol levels at the seedling, flowering and podding stage significantly enhanced all traits except transpiration rate compared with the control level. Methanol levels at three stages significantly decreased the transpiration rate compared with the control. In moderate and severe water stress treatments at seedling stage, methanol levels had significant effect regarding photosynthetic features but at flowering and podding stages, the application of methanol, except some features did not reduce the negative effects of water stress.

Key word: Water deficit, Methanol, Photosynthesis, Lentil (*Lens culinaris* Medik).

*Corresponding author, Email: Ahmadpour@bkatu.ac.ir